

遺伝子導入による虹彩色素上皮細胞の機能変化

Functional changes in gene transferred IPE cells

富田浩史、 桜木素子、 阿部俊明、 菅野江里子、 玉井 信
(東北大学大学院感覚器病態学講座)

Hiroshi Tomita, Motoko Sakuragi, Toshiaki Abe, Eriko Sugano and Makoto Tamai
(Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine)

【抄 録】

目的：虹彩色素上皮細胞（IPE）と網膜色素上皮細胞（RPE）の差異について、カテプシン群の酵素活性と遺伝子導入細胞の貪食能の変化について検討した。

方法：Long Evans ラット眼球より、IPE および RPE を分離し、培養した。色素上皮細胞の培養は、20%牛胎児血清を含む F12 培地を用いて行った。外節の消化に重要な役割を持つカテプシン D および S の活性を蛍光基質を用いて、測定した。牛眼より分離した外節を蛍光標識し、BDNF、bFGF 遺伝子導入虹彩色素上皮細胞の貪食能の変化を調べた。IPE への遺伝子導入はリポフェクション法により行った。

結果：IPE のカテプシン D および S の活性は、RPE より顕著に低かった。また貪食能は、RPE の約 70% であった。また、bFGF-IPE では RPE と同等、BDNF-IPE では RPE の約 1.2 倍であった。

結論：IPE は RPE と同様に視細胞外節の消化に重要な役割を持つカテプシン D、S 活性を有することが明らかとなった。しかしその活性は RPE に比べて有意に低く、また、視細胞外節の取り込み能も IPE では低いことが明らかとなった。取り込み能に関しては BDNF、bFGF の遺伝子導入により増加した。

Abstract

Purpose : To investigate functional differences between RPE and IPE cells, activities of phagocytosis or cathepsin family proteases were measured.

Methods : IPE and RPE cells were isolated from Long Evans rat eyes by an enzymatic dissection. Cells were cultured in F12 medium containing 20% FBS. Cathepsin D and S activities were measured by using fluorogenic substrates. Phagocytic activities were evaluated in BDNF or bFGF gene transfected IPE cells.

Results : Cathepsin D or S activities in IPE cells were markedly lower than that in RPE cells. Phagocytic activities in IPE cells were 70% of that in RPE cells. Increased phagocytic activities were observed in bFGF- or BDNF-gene transfected IPE cells.

Conclusion : IPE cells had phagocytic activity and its digestive activity, which is lowerer than RPE, same as RPE cells.

目的

網膜において RPE は、視細胞間基質の再生、視細胞と脈絡膜血管の間の栄養物、代謝物の輸送、ビタミン A の貯蓄と運搬、視細胞外節の貪食と消化、血液と網膜柵の形成、網膜下腔の水輸送等、視機能維持に重要な役割を担っていることが知られている。この重要な機能を担う RPE の機能不全は網膜変性を引き起こす要因であることが示唆されている。加齢黄斑変性では新生血管膜除去と同時にこの重要な機能を担う RPE が脱落することも術後視力が改善されない要因でも考えられている。この RPE の代替細胞として発生起源が同一とされる

IPE が利用可能かどうか調べるために、RPE の重要な機能の 1 つである貪食、消化過程について RPE と IPE を比較することを目的とした。また、視細胞変性に保護作用を有することが知られている bFGF、BDNF の遺伝子導入により、貪食能が変化するかについても検討した。

方法

Long Evans ラット眼球より、トリプシンを用いて IPE および RPE 細胞を分離し、20%牛胎児血清を含む F12 培地で培養維持した。カテプシン D および S 活性の測定はそれぞれに特異的な蛍光基質

を用いて行った。遺伝子発現についてはリアルタイム PCR により遺伝子発現量を測定した。貪食能を調べるために牛眼より視細胞外節を分離し蛍光色素で標識したものを、貪食能の評価のために用いた。IPEへの遺伝子導入はリポフェクション法により行い、ジェネティシンを含む培地で培養し、遺伝子が導入された細胞を選択した。貪食の評価は培養 RPE、IPE に蛍光標識した視細胞外節を加え、20時間培養した後、蛍光顕微鏡にて明視野および蛍光写真を撮影し、蛍光を占める面積を測定し評価した。

結果

IPE におけるカテプシン D の遺伝子発現量は、RPE と同等であった。カテプシン S では RPE に比較して有意に低いことが明らかとなった。また、それぞれの酵素活性について調べた結果、カテプシン D、S とも IPE で顕著に低いものの、活性を持つことが明らかとなった。カテプシン D の遺伝子発現が RPE と同等であるのに対し、その活性は IPE で顕著に低いという結果についてはウエスタンブロッティングによる解析によって、カテプシン D では不活性型のカテプシン D が IPE では多いことが明らかになった。このことから IPE と RPE ではカテプシン D のプロセッシングに差があることが推測された。IPE の視細胞外節の取り込みについて調べた結果、IPE では RPE の 70% と低いものであったが、IPE への bFGF 遺伝子の導入により RPE と同等に、BDNF 遺伝子導入では RPE の 1.2 倍に上昇した。

結論

IPE は RPE と同様に貪食能および消化能を有し、RPE の代替細胞として利用可能であると考えられた。bFGF や BDNF はすでに視細胞変性保護効果を持つことが広く知られており、また、今回 bFGF や BDNF 遺伝子導入により貪食能が亢進することが明らかになったことから、遺伝子導入により機能付加した虹彩色素上皮細胞を用いることにより、さらに移植効果を高めることができると考えられた。

文献

- (1) Faktorovich EG, Steinberg RH, Yasumura D, Matthes MT, LaVail MM. Photoreceptor degeneration in inherited retinal dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature*. 1990 Sep 6 ; 347 (6288) : 83-6.
- (2) Abe T, Tomita H, Kano T, et al. Autologous iris pigment epithelial cell transplantation in

monkey subretinal region. *Curr Eye Res*. 2000; 20 : 268-75.

- (3) Abe T, Yoshida M, Tomita H, et al. Auto iris pigment epithelial cell transplantation in patients with age - related macular degeneration : short - term results. *Tohoku J Exp Med*. 2000 ; 191 : 7-20.
- (4) Sakuragi M, Tomita H, Abe T, Tamai M. Changes of phagocytic capacity in basic fibroblast growth factor-transfected iris pigment epithelial cells in rats. *Curr Eye Res*. 2001; 23 : 185-191.

20010828

P. 189-195 は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので下記の資料をご参照ください。

資料

- (4) Sakuragi M, Tomita H, Abe T, Tamai M.
Changes of phagocytic capacity in basic fibroblast growth factor-transfected iris pigment epithelial cells in rats. *Curr Eye Res.* 2001; 23 : 185-191.

レンチウイルスベクター (SIV) を用いた網膜への遺伝子導入による 病理組織学的及び電気生理学的影響の検討

Simian immunodeficiency virus-based lentivirus vector for retinal gene transfer
: evaluation of the histopathological and the functional effect for retinas.

池田康博¹²、米満吉和¹、宮崎勝徳¹²、後藤純信³、坂本泰二²、田畑寿晃⁴、
上田泰次⁴、石橋達朗²、飛松省三³、長谷川護⁴、居石克夫¹
:九州大学大学院医学研究院病理病態学¹、同 眼科学²、同 神経生理学³、DNAVEC研究所⁴

Yasuhiro Ikeda, Yoshikazu Yonemitsu, Masanori Miyazaki, Yoshinobu Goto,
Taiji Sakamoto, Toshiaki Tabata, Yasuji Ueda¹², Tatsuro Ishibashi, Shozo Tobimatsu,
Mamoru Hasegawa, and Katsuo Sueishi.

Division of Pathophysiological and Experimental Pathology, Department of Pathology,
Department of Ophthalmology, and Clinical Neurophysiology,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, DNAVEC Research Inc.

【要 約】

眼科領域における遺伝子治療の研究において、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) を基にしたレンチウイルスベクターは有用と考えられているが、ウイルスそのものの安全性の問題から臨床応用が遅れているのが現状である。この問題を最小限に抑えるために、我々はヒトに病原性のないサル免疫不全ウイルス (SIV) を基にしたベクターを開発した。今回、このベクターを網膜下投与し、その安全性を病理組織学的及び電気生理学的に検討した。SIV ベクターの網膜下投与にて、網膜色素上皮細胞に効率的な遺伝子導入が可能であった。電気生理学的には、一過性の網膜機能の低下が認められたが、導入30日前後には回復した。低濃度のウイルスを投与した網膜では、1年間以上の遺伝子発現が観察できたが、高濃度を投与した網膜では、次第に遺伝子発現が低下し、最終的には網膜に変性を生じた。以上の結果より、眼科領域における SIV ベクターの有用性が示唆された。さらに、SIV ベクターの網膜下投与の際には安全域についての詳細な検討が必要であることも示された。

Abstract

Lentivirus vectors hold promise as a potential treatment modality for ocular diseases. However, the possible risks associated with the use of current human immunodeficiency virus - based vectors slow their clinical application. To minimize these safety issues, we developed a novel lentivirus vector based on the non-pathogenic simian immunodeficiency virus (SIV_{agm}), and herein evaluated it in the adult rat retina. SIV efficiently transferred mainly to the retinal pigment epithelium. ERGs revealed a transient and dose-dependent impairment of the retinal functions, and this almost completely recovered by 30 days. Retinas with a low titer vector maintained the transgene expression for over 1 year, while those with a high titer gradually lost it and thereafter demonstrated retinal degeneration. These results suggest SIV to be a useful vector for the treatment of ocular diseases, however, more attention should be paid to the deleterious side effects when using a higher titer vector.

キーワード：レンチウイルス, サル免疫不全ウイルス, 遺伝子導入, 網膜電図

<緒言>

眼科領域における遺伝子治療の研究において、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）を基にしたレンチウイルスベクターは有用と考えられているが、ウイルスそのものの安全性の問題から臨床応用が遅れているのが現状である。この問題を最小限に抑えるために、我々はヒトに病原性のないサル免疫不全ウイルス（SIV）を基にしたベクターを開発した。今回、このベクターを網膜下投与し、その安全性を病理組織学的及び電気生理学的に検討した。

<対象及び方法>

reporter gene を搭載した2種類の濃度のベクター溶液をラット網膜下に注入し、経時的に発現を検討した。同時に病理組織学的変化を光学顕微鏡的に、電気生理学的変化を網膜電図（ERG）を用いて検討した。

<結果>

低濃度群（ 2.5×10^7 TU/ml）では、1年間を通して網膜色素上皮細胞に安定した遺伝子発現が観察され、組織傷害は殆どなかった。高濃度群（ 2.5×10^8 TU/ml）では、遺伝子発現は経時的に減弱し、最終的には導入部位にほぼ一致した網膜の変性が認められた。網膜電図では、両濃度で導入初期の電位低下とその後の経時的な電位の回復が観察された。

<考察>

長期間の安定した遺伝子発現が得られたことより、眼科領域におけるSIVベクターの有用性が示された。また、高濃度のベクター投与にて組織傷害性が認められたことより、SIVベクターの網膜下投与の際には安全域についての詳細な検討が必要であると考えられた。

文献

1. Sakamoto T et al. Retinal functional change caused by adenoviral vector-mediated transfection of LacZ gene. *Hum Gene Ther* 1998 ; 9 : 789-799.
2. Miyoshi H et al. Stable and efficient gene transfer into the retina using an HIV-based lentiviral vector. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 10319-10323.
3. Takahashi M et al. Rescue from photoreceptor degeneration in the rd mouse by human immunodeficiency virus vector-mediated gene transfer. *J Virol* 1999 ; 73 : 7812-7816.
4. Naldini L et al. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a

lentiviral vector. *Science* 1996 ; 272 : 263-267.

5. Nakajima T et al. Development of novel simian immunodeficiency virus vectors carrying a dual gene expression system. *Hum Gene Ther* 2000 ; 11 : 1863-1874.
6. Auricchio A et al. Exchange of surface proteins impacts on viral vector cellular specificity and transduction characteristics : the retina as a model. *Hum Mol Genet* 2001 ; 10 : 3075 - 3081.
7. Bainbridge JW et al. In vivo gene transfer to the mouse eye using an HIV-based lentiviral vector ; efficient long-term transduction of corneal endothelium and retinal pigment epithelium. *Gene Ther* 2001 ; 8 : 1665-1668.
8. Ikeda Y et al. Recombinant Sendai Virus-mediated Gene Transfer into the Retinal Tissue of Adult Rats : efficient gene transfer by brief exposure. *Exp Eye Res* 2002 ; 75 : 39-48.

ロービジョン患者の日常生活行動と LoVE (Low Vision Evaluator) スコアとの関係

The relationship between ADL (activities of daily living)
and LoVE (Low Vision Evaluator) score in patients with low vision

李 俊哉*¹、築島謙次、林 弘美、
三輪まり枝、菅野和子、中西 勉
滝本正子*²

*¹ 国立身体障害者リハビリテーションセンター

*² 慈恵会医科大学眼科学教室

Toshiya Lee*¹, Kenji Yanashima, Hiromi Hayasi,
Marie Miwa, Kazuko Kanno, Tutomu Nakanishi,
Masako Takimoto*²

*¹ National Rehabilitation Center for the Disabled

*² Dept of Ophthalmol, Gikeikai Med sch

【抄 録】

我々はロービジョン患者57名について、日常生活行動と LoVE スコアとの関係を検討した。原因疾患は網膜色素変性 (RP) 26例、緑内障 8例、糖尿病網膜症 7例、視神経萎縮 6例、その他10例であった。各対象者に視力検査、LoVE による検査、日常生活行動の10項目についてのアンケートを行い、各項目の評価を2段階として点数化した。全体では日常生活行動と LoVE スコアとの間に相関関係は認められなかった。2.0log MAR 以上 (少数視力 0.01 以下) の疾患群について、RP 群と RP 以外の群にわけて比較検討したところ、RP群では日常生活行動と LoVE スコアとの間に有意な相関関係は認められなかった。RP 以外の群では、横断歩道の白線、人の動き、太陽光の明かりの認知と LoVE スコアとの間に有意な相関関係を認めた。LoVE は重度視力障害者の視機能評価法として有用である。

Abstract

The relationship between the activities of daily living (ADL) and LoVE score were evaluated using 57 patients with low vision. The patients diseases consisted of 26 retinitis pigmentosa (RP), 8 glaucoma, 7 diabetic retinopathy, 6 optic atrophy and 10 other patients with various different diseases. Each patient was examined by visual acuity, LoVE testing, a questionnaire of 10 items of ADL which was scored using a two-level scale from one to two. There was no correlation between ADL and LoVE score in any of the patients. Next we evaluated the RP group and the other group with a visual acuity of 2.0logMAR (decimal visual acuity 0.01) or worse. The RP group had no significant correlation between ADL and LoVE score. The Other group had significant correlation between the items of ADL, zebra zone, mobility, sunlight and LoVE score. It was found that LoVE is valuable for evaluating the visual function of severe low vision patients.

キーワード：LoVE (Low Vision Evaluator) スコア、日常生活行動 (ADL), アンケート、
網膜色素変性、2.0logMAR (少数視力 0.01)、横断歩道の白線、人の動き、太陽光の明かり

緒言

重症および難治性眼疾患に対する新しい治療法の開発や手術法の進歩がある一方で、重度視覚障害者の新しい視機能評価法の確立が期待されている。LoVE (Low Vision Evaluator) は重度視覚障害者の視機能変化をとらえるために開発された装置である。

我々は平成12年度の本学会議において、光覚測定装置 LoVE の使用経験について報告した。その結果、視力および視野と LoVE スコアとの明らかな相関関係は認められなかったが、疾患別に検討すると、視力および視野と LoVE スコアとの間に相関関係が認められるものも存在し、ロービジョン診療での補助的視機能検査法として LoVE は有用であることを報告した。

今回我々は、ロービジョン患者の日常生活行動と LoVE スコアとの関係を検討した。

対象と方法

当科外来に通院中の患者57名（男性40名、女性17名）を対象とした。年齢は25～83歳で、平均年齢は54歳であった。原因疾患は網膜色素変性（RP）26例、緑内障8例、糖尿病網膜症7例、視神経萎縮6例、その他10例であった。各対象者に対して、視力検査、LoVEによる検査（白色LED光源の全視野刺激型検査ゴーグルを使用し、背景光なしの条件で、両眼同時に標準モードで施行。）を行った。また、日常生活行動の10項目についてアンケートを行い、各項目の評価を2段階として点数化した。10項目の内容は、①新聞の見出しが読めるか、②横断歩道の白線がわかるか、③人の動きがわかるか、④太陽光の明かりがわかるか、⑤夜間の歩行ができるか、⑥屋外での眩しさを感じるか、⑦階段や段差が困るか、⑧役所、銀行の用紙の記入ができるか、⑨ご飯やおかずの食べ残しがわかるか、⑩硬貨の見分けができるかについてである。

次に2.0logMAR以上（少数視力0.01以下）の疾患群について、RP群とその他の疾患群とに分けて比較検討した。

結果

全体では日常生活行動と LoVE スコアとの間に明らかな相関関係は認められなかった。

2.0logMAR以上のRP群（図1）とRP以外の疾患群（図2）では視力と LoVE スコアとの相関が異なった。

2.0logMAR以上のRP群（図3, 5, 7）では日常生活行動の各項目と LoVE スコアとの間に有意な相関関係は認められなかった。しかし、2.0logMAR以上の疾患群（RP以外）（図4, 6, 8）では、①横断

歩道の白線、②人の動き、③太陽光の明かりの認知と LoVE スコアとの間に有意な相関関係を認めた。

考案

今回の本研究の結果、最も基本的な日常生活行動のなかで、太陽光の明かり、横断歩道の白線、人の動きの認知と LoVE スコアとの有意な相関を認めたことより、2.0logMAR以上（少数視力が0.01以下）のロービジョン者の日常生活行動の評価には LoVE スコアは有用と思われた。このことは過去の報告で言われているように1, 2)、重度低視力者の視機能評価法として LoVE が有用であることを支持するものである。網膜色素変性の疾患群とその他の疾患群とで差がみられたことは興味深いことであり、理由として残存視野の影響が考えられる。さらに興味深いことに、視野検査が測定不能であった重度低視力者でも、LoVE スコアの結果を参考にして再度視野検査を試みたところ、視野の残存が判明したことである。様々な疾患による特徴を調べるためにも、今後さらに症例を増やし更なる検討を進めていきたい。

参考文献

- 1) 山田 翼、中川陽一、和田裕子、玉井 信：Low Vision Evaluator (LoVE) による網膜色素変性の視機能評価。臨眼 54：516-520, 2000
- 2) 國方彦志、中川陽一、角田雅宏、玉井 信：重度低視力者の視機能評価とその測定機器 Low Vision Evaluator の開発。日眼会誌105：161-166, 2001

網膜色素変性症

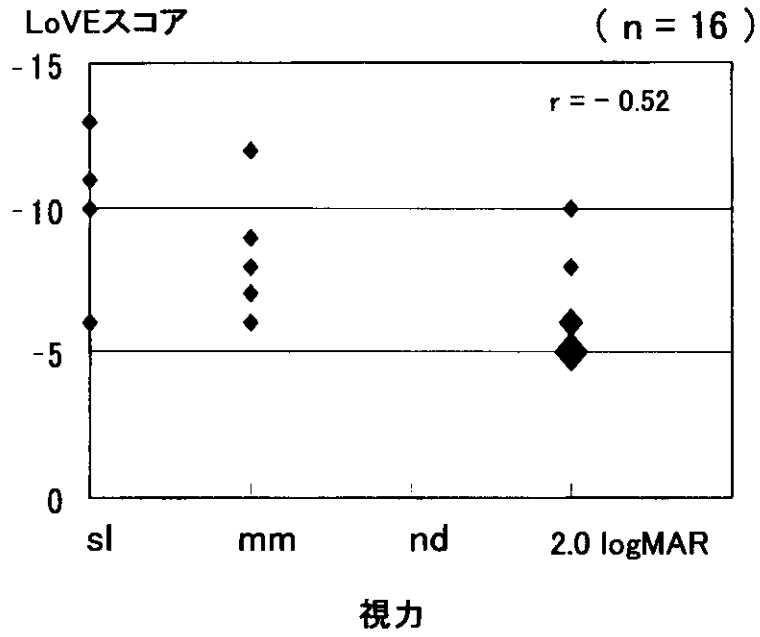


図1：視力と LoVE スコアとの関係（網膜色素変性群）

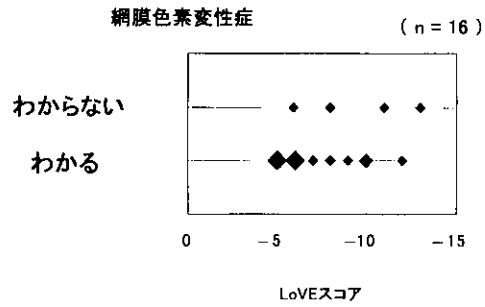


図2：視力と LoVE スコアとの関係（その他の疾患群）

横断歩道の白線とLoVEスコア
網膜色素変性症 (n = 16)

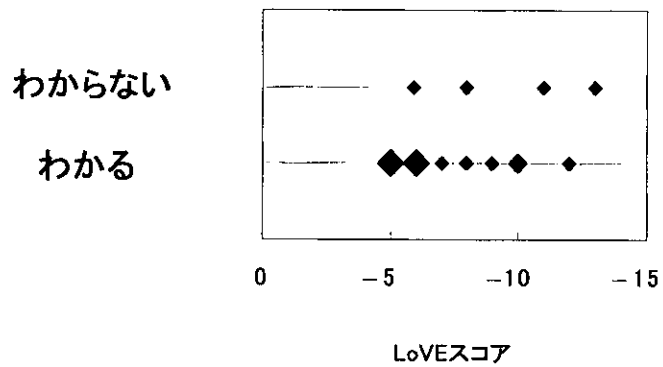


図 3 : 横断歩道の白線の認知と LoVE スコアとの関係 (網膜色素変性群)

横断歩道の白線とLoVEスコア
その他の疾患 (n = 15)

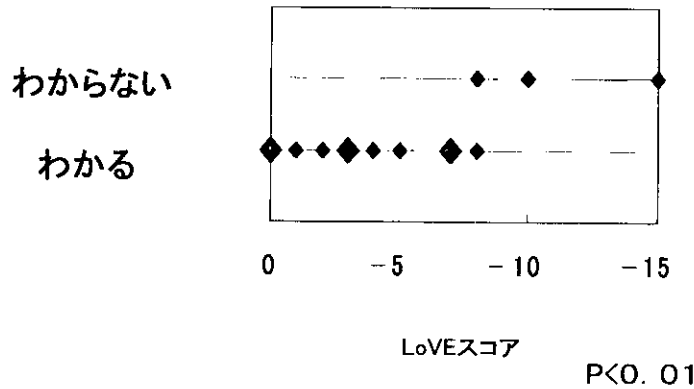


図 4 : 横断歩道の白線の認知と LoVE スコアとの関係 (その他の疾患群) p < 0.01で有意差あり

人の動きとLoVEスコア
網膜色素変性症

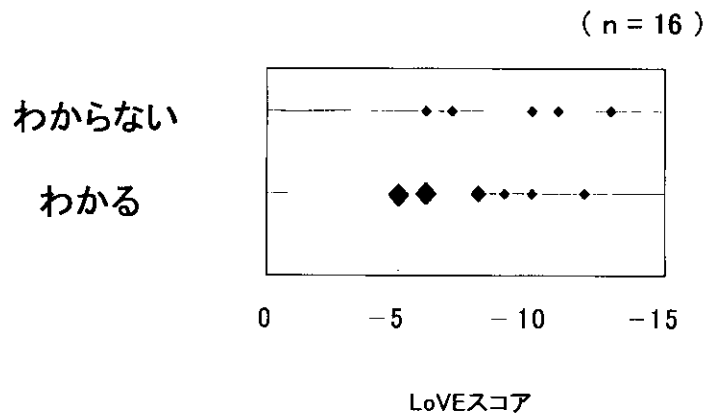


図 5 : 人の動きの認知と LoVE スコアとの関係 (網膜色素変性群)

人の動きとLoVEスコア

その他の疾患

(n = 15)

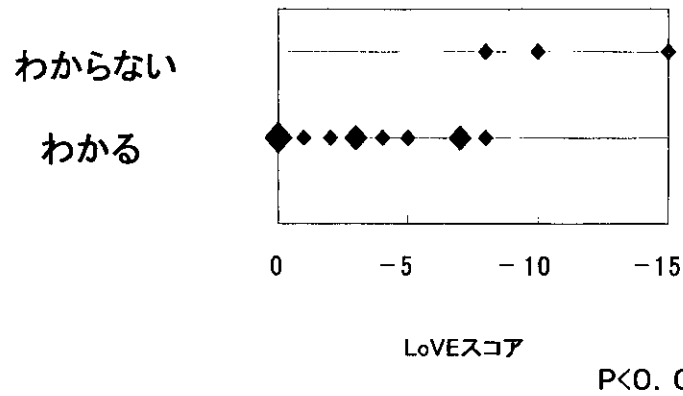


図6：人の動きの認知と LoVE スコアとの関係（その他の疾患群） $p < 0.01$ で有意差あり

太陽光 と LoVEスコア

網膜色素変性症

(n = 16)

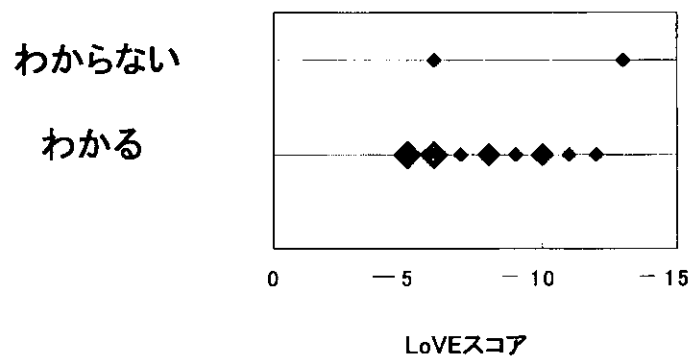


図7：太陽光の明かりの認知と LoVE スコアとの関係（網膜色素変性群）

太陽光 と LoVEスコア

その他の疾患

(n = 15)

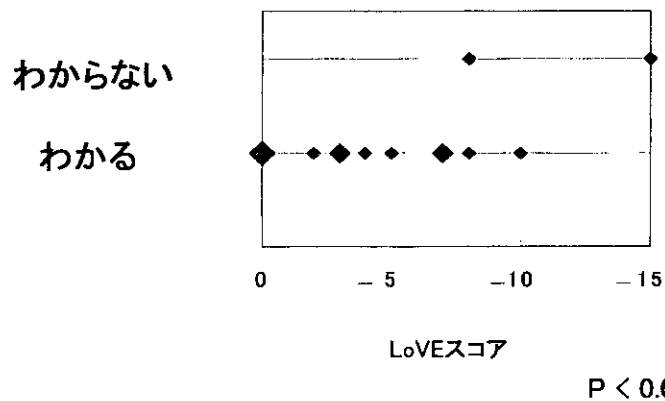


図8：太陽光の明かりの認知と LoVE スコアとの関係（その他の疾患群） $p < 0.05$ で有意差あり

LoVEスコアとハンフリー 10-2 視野

Low Vision Evaluator and Humphrey 10-degree perimetry

戸田義喜、 関根 新、 飯島裕幸
山梨医科大学眼科学教室

Yoshiki Toda, MD ; Arata Sekine, MD ; Hiroyuki Iijima, MD,
(Department of Ophthalmology Yamanashi Medical University)

【抄 録】

目的：ハンフリー10-2 視野測定が困難な末期の網膜色素変性症患者で、Low Vision Evaluator (LoVE) が病変進行のモニターを引き継ぐことができる可能性を検討した。

対象と方法：山梨医科大学眼科、網膜外来通院中の定型網膜色素変性症患者で6ヶ月以内にハンフリー10-2 と LoVE を行った17例33眼。

結果：LoVE スコアと mean deviation 値 (MD値)、視力のいずれも有意な相関を認めたが相関係数は前者で高かった。LoVE スコアと中心窩閾値の間には有意な相関を認めなかった。

結論：ハンフリー視野計、中心10-2 検査で閾値測定が困難な最末期の網膜色素変性症症例において、進行程度のモニターを LoVE によって引き継ぐことは可能と考えられた。

Abstract

Purpose : To study the efficacy of Low Vision Evaluator (LoVE) for monitoring the progressive loss of visual function in eyes with retinitis pigmentosa in whom the assessment of central 10-degree Humphrey perimetry is difficult because of very low mean deviation values.

Subjects and Methods : Thirty three eyes of 17 patients with advanced retinitis pigmentosa who received both Humphrey 10-2 perimetry and LoVE within a half-year period.

Results : LoVE score was significantly correlated with both mean deviation and visual acuity. The correlation coefficient was higher with mean deviation than with visual acuity. No significant correlation was demonstrated with foveal threshold.

Conclusion : LoVE could be used to monitor the progressive loss of visual function in eyes with retinitis pigmentosa, in which the mean deviation of Humphrey 10-2 perimetry is too low to assess the functional condition.

キーワード：網膜色素変性症，静的自動視野計，LoVE

Key words : retinitis pigmentosa, automated static perimetry, Low Vision Evaluator

緒言

網膜色素変性症の視野障害の評価には、これまで一般に動的視野計が多く用いられてきたが、動的視野計の厳密な評価には限界がある。一方、代表的な静的視野計であるハンフリー視野計の中心10-2プログラムでは、中心10度以内の68ポイントについて光覚感度を測定する。その視野指標のひとつである mean deviation 値 (以下 MD 値と略) は各測定点での正常感度からの偏位の平均値であるが、中心視野における視野の島のボリュームを反映するという点で、中心視野の定量的な測定が可能である。我々は

静的視野計のこのような特徴に着目し、以前より進行期の網膜色素変性症患者にハンフリー10-2プログラムによる視野測定を行ってきた。その結果、MD 値を経過時間で線形回帰分析することで、たとえ視力が不変な場合でも、数年という比較的短時間で有意な進行を検出することができることを証明し、網膜色素変性症の進行程度の指標とすることが適当であることを報告した¹⁾。しかし、本症末期になると中心10度の視野でさえ、ほとんど失われるために、この時期の進行程度をモニターするには別の機能検査が必要になる。

一方、東北大学眼科で開発された LoVE (low vision evaluator) は網膜全体の光覚を簡便に短時間で半定量的に評価できる検査機器である。²⁾

今回、ハンフリー視野計中心10-2プログラムで定量評価が困難な末期の網膜色素変性症患者で、LoVE が網膜色素変性症の進行モニターを引き継ぐことができるかを検討するために、両者のデータを比較検討した。

対象と方法

対象は2001年6月から12月に山梨医科大学付属病院眼科外来を受診した定型網膜色素変性症患者のうち、6ヶ月以内にハンフリー中心10-2プログラムとLoVEの両者を行った17例33眼である。平均年齢は56.1歳(29~81)、平均視力は0.35(手動弁~1.0)、ハンフリー視野計中心10-2の平均MD値は-25.9dB(-33.5~-11.2dB)で中心窩閾値の平均は20.8dB(0~36dB)であった。以上の対象眼においてLoVEスコアとMD値、中心窩閾値、視力の関係について比較検討した。LoVEの刺激光強度はLを、発行時間は0.01、0.03、0.1の3段階を用いた。

結果

ハンフリー視野計中心10-2のMD値とLoVEスコアの関係を図1に示す。両者に有意な相関を認めた。(r=0.630, P<0.001) またMD値が-30dB前後の末期患者では、LoVEスコアは-5から-7に集中していた。

ハンフリー視野計中心10-2の中心窩閾値とLoVEスコアの関係を図2に示す。両者に有意な相関は認められなかった。(r=0.179, P=0.3373)

視力とLoVEスコアの関係を図3に示す。横軸はLogMAR視力で、対応する少数視力をその下に括弧で示してある。右にいくほど、つまり、視力が悪くなるにつれ、LoVEスコアも悪くなる結果となった。両者に有意な相関を認めた。(r=-0.475, P=0.0065)

尚、参考のために周辺視野は良好だが、視力が0.1程度の錐体ジストロフィー患者6例12眼について、同様に視力とLoVEスコアの関係を図4に示す。錐体ジストロフィーでは、網膜色素変性症に比べて視力が低下してもLoVEスコアが良い結果となった。

考按

網膜色素変性症における病変は網膜全体であり、その機能低下の進行を評価するには網膜全体の機能をみるのが理屈にあう。その意味から網膜全体の機能を反映する網膜電図による進行評価は妥当だが、

中心窩のみの機能である視力による評価は問題がある。事実、本症の末期を除いて視力は通常正常であるので、本症の初期~中期の進行モニターには視力は無力である。

視野は網膜全体をカバーするので量的視野測定で視野の島の体積に相当する指標を用いるなら、網膜電図と同様、本症における病変の正確な進行評価が可能であろう。著者らがこれまで報告してきたハンフリー中心10-2視野のMDは、ある程度進行した本症患者では、周辺視野をすでに失っているので、網膜全体の機能障害の進行をみるよい指標となりうる。

しかし、ハンフリー10-2視野によるMDで進行をモニターしてきた患者さんでも、MDの値が-30dBを下回るような時期になってくると、測定点のほとんどが0dB以下となり、定量的な解析が困難となる。そこで、この時期の進行モニターのために、新たな簡便な検査法が望まれる。

LoVEは光覚検査であるが、全視野刺激であるので、残存する網膜機能の総和を反映すると考えられる。LoVEスコアが局所の感度である中心窩閾値には相関せず、より広い範囲の感度の平均であるMDに相関したのはその証拠である。また図4で錐体ジストロフィー患者さんのLoVEスコアが網膜色素変性症に比べてはるかに良好であったのは、錐体ジストロフィーでは周辺視野が十分に残存しているためと考えられる。LoVEスコアは局所機能である視力とも相関したが、その程度はMDよりは低かった。

LoVEは、このように網膜色素変性症の残存する網膜機能全体を反映するが、中等度までの進行期の網膜色素変性症患者さんでは、LoVEの刺激光はすべて認識でき、LoVEスコアは0となってしまうので、本機の利用価値は末期の網膜色素変性症患者さんに限られる。

今回の研究は、ハンフリー10-2視野計による進行度モニターが困難になる、MDが-30dB以下の網膜色素変性症症例で、LoVEが進行モニターに利用できるか否かを検討した。図1からハンフリー10-2視野のMDとLoVEスコアはよく相関することがわかる。またハンフリー10-2視野のMDが-30dB付近の症例で、LoVEスコアが-2から-8程度に分布しており、この時期の患者さんの視機能を判定するのに適していることが理解できる。

網膜色素変性症患者さんのハンフリー10-2視野のMDが-30dBを下回るような進行期において進行経過をモニターする簡便な臨床検査としてLoVEは十分利用できる可能性が示唆された。

参考文献

1. Hirakawa H, Iijima H, Gohdo T, Imai M, Tsukahara S. Progression of defects in the central 10-degree visual field of patients with retinitis pigmentosa and choroideremia. Am J Ophthalmol 1999. 127: 436~42
2. 國方彦志、中川陽一、角田雅宏、玉井信：重度低視力者の視機能評価とその測定機器 Low vision evaluator の開発：日眼会誌, 105: 161-166, 2001

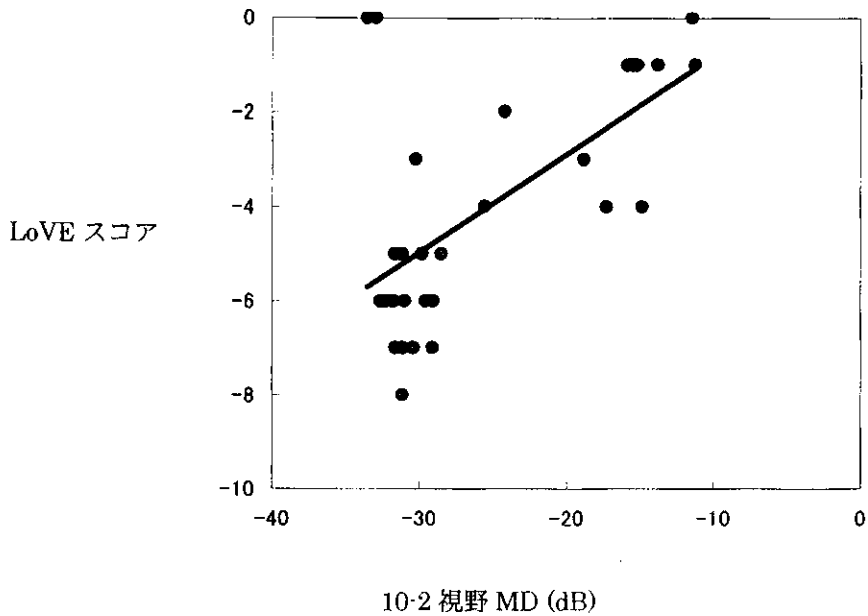


図1：網膜色素変性症眼におけるハンフリー中心10-2視野のMDとLoVEスコアとの関係

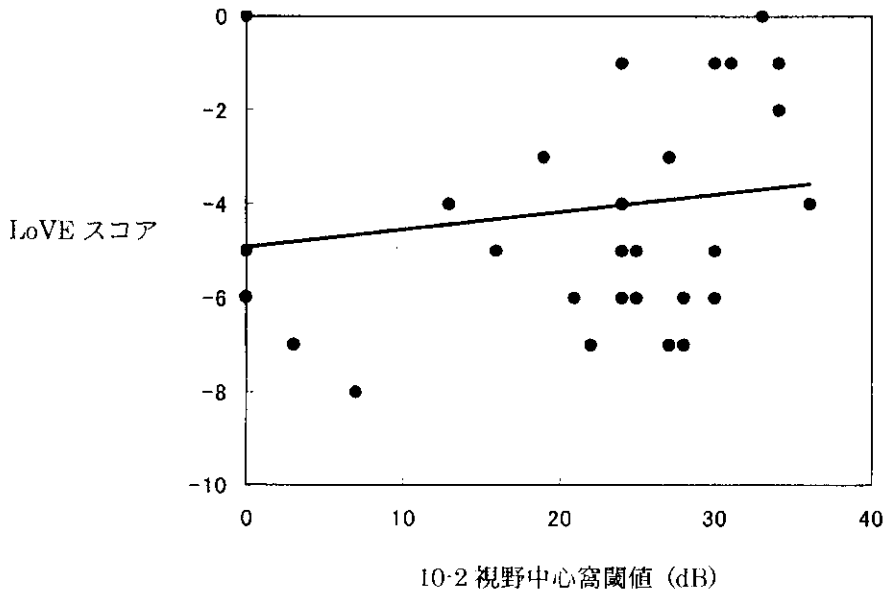


図2：網膜色素変性症眼におけるハンフリー中心10-2視野の中心窩閾値とLoVEスコアとの関係

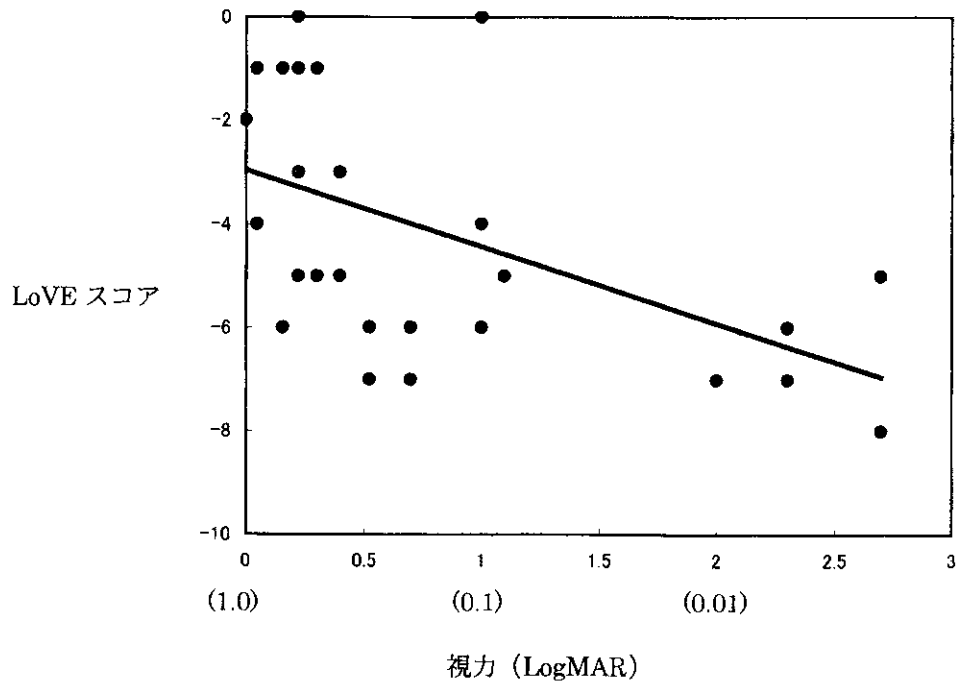


図3：網膜色素変性症眼におけるLogMAR（視力）とLoVEスコアとの関係

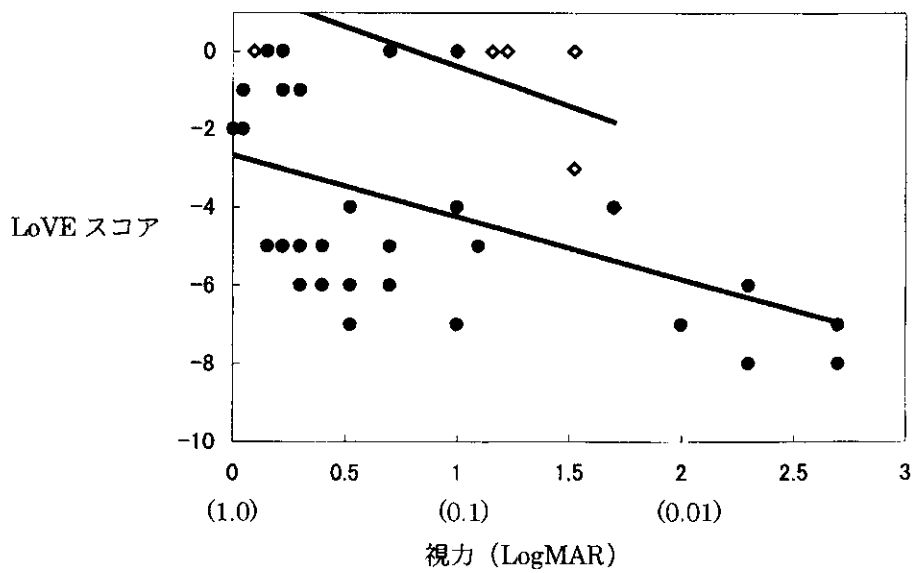


図4：網膜色素変性症眼（黒丸）と錐体ジストロフィー眼（白四角）における LogMAR（視力）と LoVEスコアとの関係

グラデーション化した遮光レンズの試作

Consideration of the gradient absorptive lenses

林 弘美、三輪まり枝、菅野和子、中西 勉、李 俊哉、築島謙次
(国立身体障害者リハビリテーションセンター第三機能回復訓練部)
川合忠章 (HOYA(株)ビジョンケアカンパニー)

Hiromi HAYASHI, Marie MIWA, Kazuko KANNO, Tutomu NAKANISHI,
Toshiya LEE, Kenji YANASHIMA
(National Rehabilitation Center for the Disabled)
Tadaaki KAWAI (HOYA CORPORATION)

【抄 録】

ロービジョン者の光学的補助具に対する要望は、近見視用補助具について遮光眼鏡が多い。どのような環境下において問題があるか質問調査をおこなった。網膜色素変性症患者25名に現在使用している遮光眼鏡およびサングラス装用時に困っていることについて質問調査をおこなった。その結果、半数以上の患者が現在使っている遮光眼鏡に不便を感じていることがわかった。私達は、かけたりはずしたりする煩わしさをなくし眼を動かすだけで明るさの調整が可能となる遮光眼鏡を試作した。このレンズを装用し網膜色素変性症患者18名に、木陰、建物の陰、室内への移動、階段の上り下りの4箇所での歩行評価をおこなった。その結果、18名中10名が4箇所のうち2箇所以上で「見やすい」と答えた。残り8名中6名は、階段の下りで足元が見やすくなると答えた。以上の事から、順応が充分でない網膜色素変性症患者に対してグラデーション化した遮光レンズが有効と思われる。

Abstract

There is a wide variety of absorptive lenses available on prescription, however apart from few exceptions, there is a little satisfaction with the filter lenses available for retinitis pigmentosa patients.

First, we conducted a study to evaluate patient's satisfaction with tinted lenses which are commercial available. We surveyed 25 retinitis pigmentosa patients who are currently visiting our clinic to evaluate the performance of their daily life with regards to their tinted lens.

On the whole, these patients have difficulties adapting to different levels of illumination quickly. Following on from these results, we conducted a trial using gradient tinted lenses.

Ten out of 18 patients were very satisfied with the gradient lenses.

Six of them were satisfied with the lenses when they walked down stairs.

Two patients were unsatisfied with the lenses because of too much glare.

In total 16 patients answered favorably.

This has alerted us to the fact that many retinitis pigmentosa patients may be more satisfied with our gradient lenses than usual one.

キーワード：ロービジョン、遮光眼鏡、暗順応、QOL

1 はじめに

国立身体障害者リハビリテーションセンターでは、平成12年に207人のロービジョン患者に対応している。その半数以上は網膜色素変性症の患者である¹⁾。そのほとんどが羞明を訴え、当クリニックでの過去5年間(1993~1998)の網膜色素変性症患者に対する遮光眼鏡処方数は110件にも及んでいる。患者に最もよく処方される遮光眼鏡はHOYA レチネックス YB、次いでYEの順となっている。しかしながら、多くの患者は1種類のレンズだけでは満足しておらず数種類持つ者も少なくない。私達は、患者がどのような場面で不都合を感じているのかを知るために遮光眼鏡に関する質問表を作成しその困難度を調べた。次にその結果に基づいてグラデーション化した遮光眼鏡を試作し、患者に実際に装着してもらいその有効性を健闘してみたので報告する。

2 対象と方法

2.1 質問票

対象は、当クリニックを平成13年4月以降に受診した網膜色素変性症患者25名に質問表調査をおこなった。男性10名、女性15名、平均年齢55.7±6.9であった。

対象となった患者の年齢、視力分布を図1に示す。方法は、屋外と室内に分け日頃患者がよく訴える困難と思われる事について質問表を作成した。患者の困難度についての回答は(1 はい 2 ときどき 3 いいえ)の3通りとした。実際に使っている遮光眼鏡については、具体的にその色を述べさせた。拡大読書器については実際に使用している13名での回答となった。

2.2 グラデーションレンズの試作

上記質問表の結果から、患者はまぶしさは感じているもの、実際使用しているサングラス又は遮光眼鏡では、陰に入った時に暗くなって「見づらい」と感じて入ることがわかった。今回の調査で半数以上の患者が茶系のサングラスおよび遮光眼鏡を装着していた事から茶色が患者にとって受け入れやすい色ではないかと考え、HOYA レチネックス YBを基色としレンズの上端から下端へ徐々に透過率を上げ最下部は色のないグラデーションレンズをクリップ型で試作した。写真1は今回試作したグラデーションレンズ、図2はレンズの分光透過率曲線を示す。当眼科を受診した網膜色素変性症の患者18名(男性6名、女性12名、平均年齢52.6±6.1才)を対象に晴天時にグラデーションレンズを装着して当センター敷地内(図3)での歩行評価をおこなった。

患者には、屋外でまぶしい時はグラデーションレンズの上方部を使用し、陰に入って暗く感じる時は眼を動かしてレンズ下方部分を使って眼に入る光量を一定にするように眼の使い方(図4)を事前に説明した。アンケートの結果から、患者が見づらさを訴えていた木陰、建物の陰、段差、室内への移動、階段の上り降りの4ヶ所をチェックポイントとした。

3 結果

3.1 アンケート結果とその検討

質問表に対する回答内訳を表1に示す。

- 1 「見づらい」と「時々見づらい」と答えた者をあわせると全症例が晴れの日のまぶしさを訴えていた。曇りの日も25人中21名(84%)がまぶしいと感じていた。これにより曇りの日も遮光眼鏡のニーズがある事を確認した。
- 2 足元が「見づらい」あるいは「時々見づらい」と答えた者は17名(68%)、建物の陰が「見づらい」あるいは「時々見づらい」と答えた者は19名(76%)であった。

3.2 グラデーションレンズの評価

屋外において、4ヶ所のチェックポイントのうち18名中10名(55%)がグラデーションレンズを装着する事で2ヶ所以上で「とても見やすくなる」と答えた。屋外から室内への移動する時や明るさが急に変化する時に、立ち止まって眼鏡をはずしたり、かけかえたりすることなく眼を動かすだけで明るさを調整できる点が有効であった。1ヶ所で「見やすくなる」と答えた者は6名(33%)であった。特に階段を下りる時に足元が見やすくなるという答えが多く得られた。残り2名は、まぶしさを訴え「見づらい」という答えであった。

4 考察

網膜色素変性症患者に対して、屋外でのまぶしさを軽減しコントラストも上がる遮光眼鏡を評価選定し貸し出しをしてから処方している。ところが、実際装着してみると一種類の遮光眼鏡では対応できない状況が多々ある。従来は、暗順応時間を短縮させる²⁾³⁾ために屋外から室内へ移動する時にクリップの使用指導をしたり、複数の眼鏡をかけかえるように助言している。しかしながら、患者が満足するには至っていない。

今回試作したグラデーションレンズは上部から分光透過率が10、20、40、70、90%の層になっており、全体的には約50%の光をカットして暗順応している⁴⁾状態となる。

実際に網膜色素変性症患者に装用してもらったところ、光量を視線で調節する事が可能な点と階段の下りの際に足元が明るいという点が有効であった。しかし全体の遮光率は50%以下となるので、真夏の日差しや太陽光線が直接眼に入るような場合、私達が試作したグラデーションレンズでは遮光が充分ではないのでサイドシールドや防止の併用、又はオーバーグラス、スリッピンレンズが必要であると考えられる。

参考文献

- 1 ロービジョンケアマニュアル 築島謙次
- 2 眼鏡調査研究報告書 テクノイド協会 1991
- 3 網膜色素変性症患者に対する遮光レンズ効果 視能訓練士協会誌
- 4 あたらしい眼科 VOL.9 築島謙次

n=25

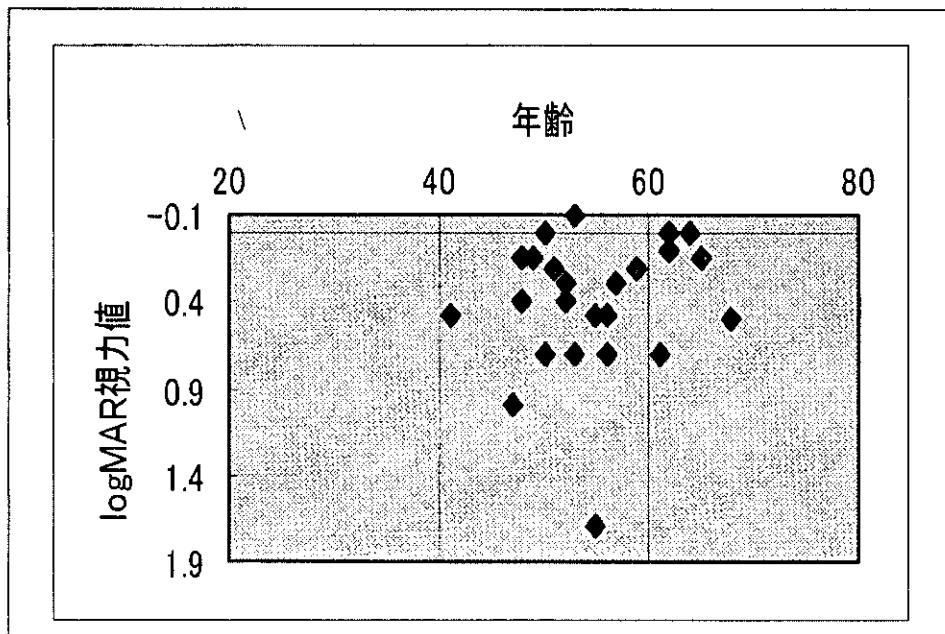


図1 患者の年齢と視力分布

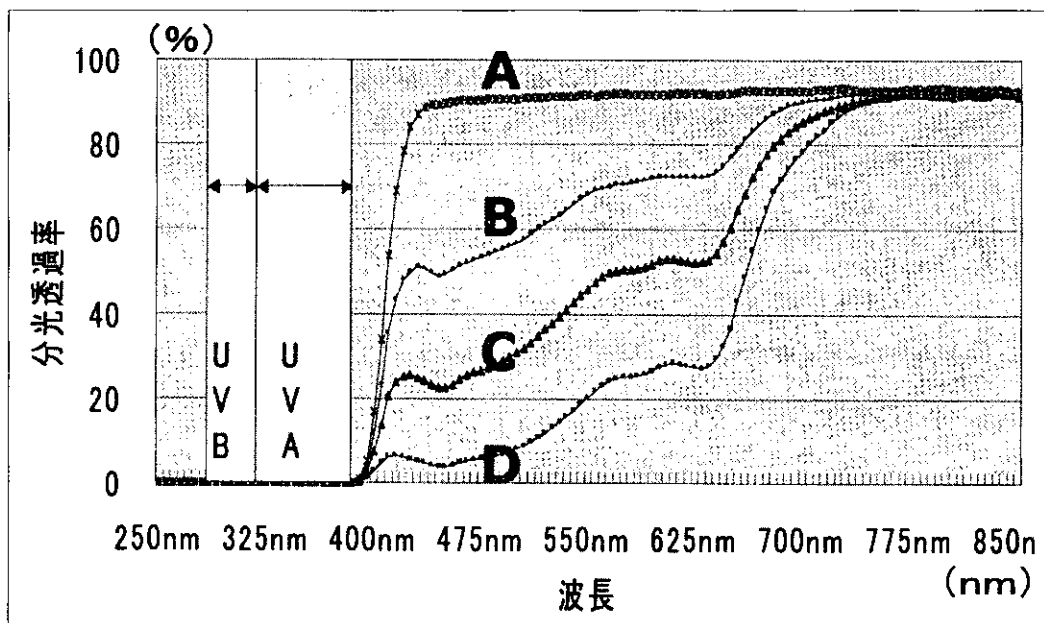


図2 分光透過率曲線

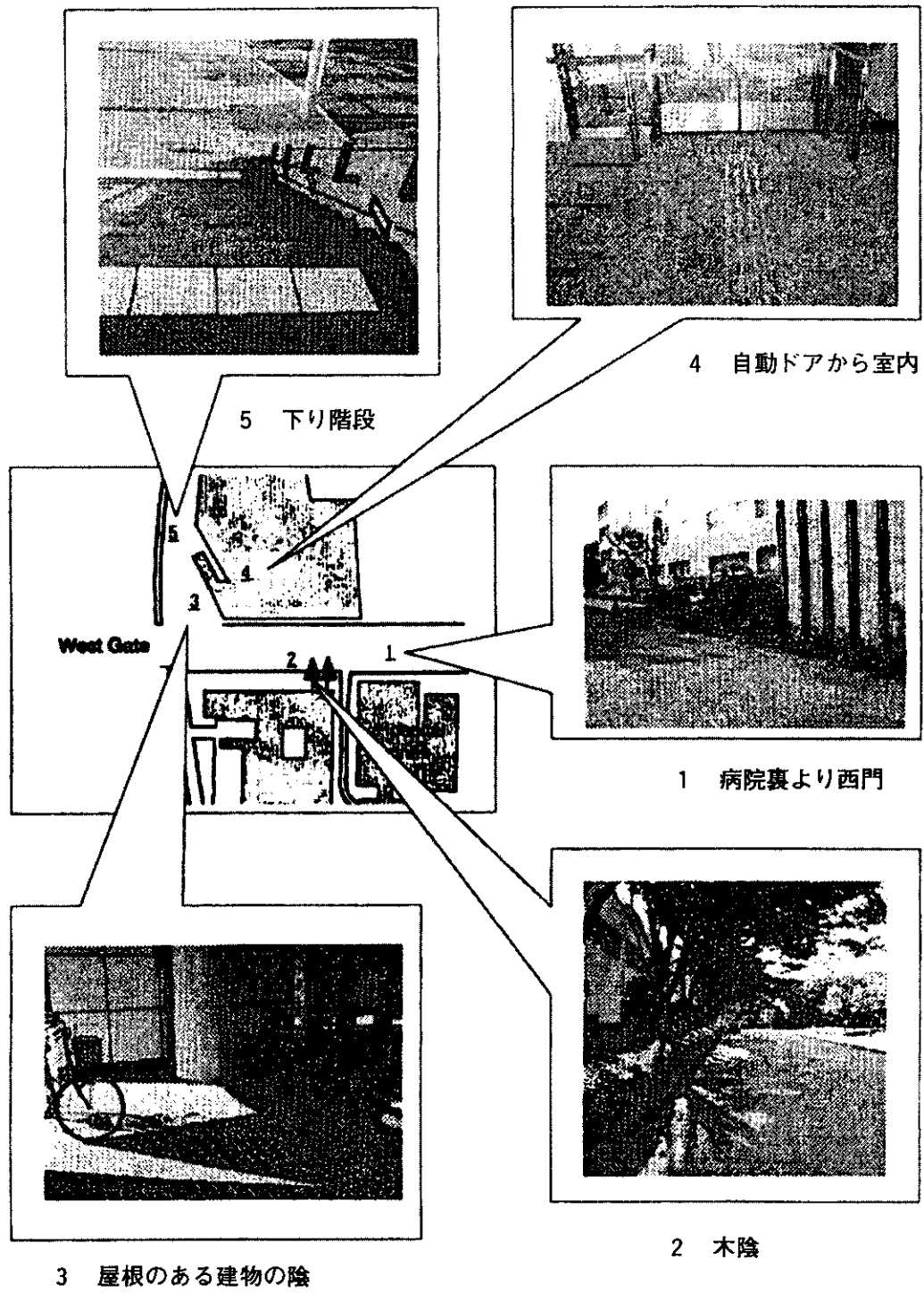


図3 敷地内地図

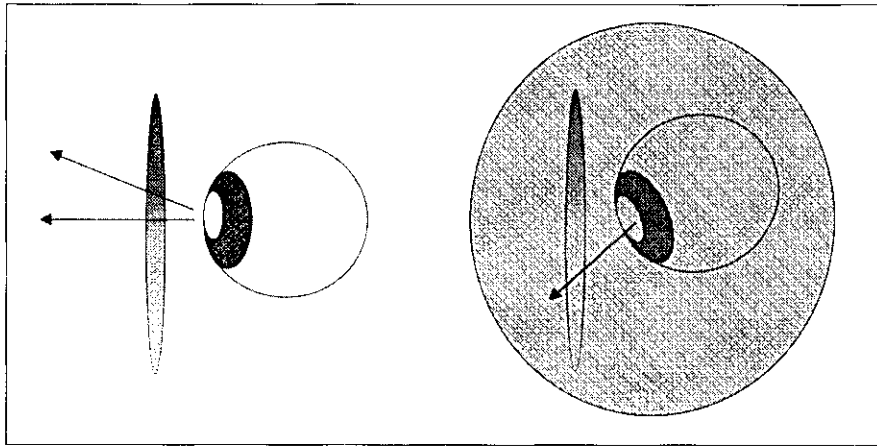


図4 眼の使い方

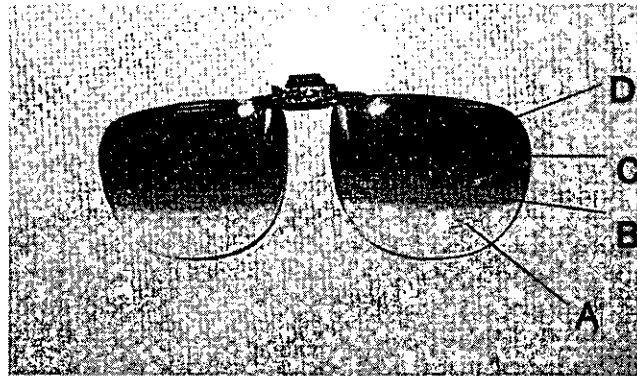


写真1 グラデーションレンズ

(n=25)

	見づらい	時々見づらい	見づらくない
暗れ	23	2	0
曇り	12	9	4
足元	11	6	8
建物	13	6	6
段差	17	6	2
地下鉄	7	6	9
窓	16	2	6
蛍光灯	10	5	10
白紙面	10	5	10
テレビ	8	2	15
CCTV	1	1	11

表1 アンケート結果

虹彩細胞からの視細胞様細胞の分化誘導

Induction of photoreceptor-like cells from adult rat iris cells

高橋政代¹、春田雅俊¹（京都大学附属病院探索医療センター開発部）
本田孔士¹（京都大学大学院医学研究科視覚病態学）
小阪美津子²（JST PRESTO 研究者）
斉藤裕美³、斉藤 泉³（東京大学医科学研究所遺伝子解析施設）
井上智之⁴（京都大学ウイルス研究所増殖制御学、大阪大学大学院医学研究科眼科学）
影山龍一郎⁴（京都大学ウイルス研究所増殖制御学）

Masayo Takahashi¹, Masatoshi Haruta¹, Yoshihito Honda¹, Mitsuko Kosaka², Yumi Saito³,
Izumu Saito³, Tomoyuki Inoue⁴, Ryoichiro Kageyama⁴

¹Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine

²Japan Science and Technology Corporation/TOREST

³Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Medical Science, University of Tokyo

⁴Institute for Virus Research, Kyoto University

【抄 録】

目的：ラット成体虹彩細胞の網膜神経、特に視細胞への分化について検討した。

方法：成体ラット虹彩細胞を bFGF を添加した無血清培地（DMEM/F12+N2 supplement）で培養し増殖させた後、アデノおよびレトロウイルスを用いてCrx遺伝子を導入した。コントロールには GFP 遺伝子のみを導入した。1%牛胎仔血清添加培地にて分化誘導後、視細胞のマーカーである抗ロドプシン抗体、抗リカバリン抗体による免疫細胞化学的解析を行った。

結果：虹彩から分化誘導によって神経の分化を得た。さらに Crx 遺伝子を導入することによってロドプシン、リカバリン陽性細胞が出現した。脳由来の神経幹細胞では同様の方法を用いてもロドプシンの発現はなかった。

結論：虹彩組織から得られた細胞は、視細胞特異的なホメオボックス遺伝子の導入によって視細胞固有の蛋白を発現した。

Abstract

Purpose : We evaluated the differentiation of retinal neurons, especially photoreceptor cells from adult rat iris cells.

Methods : Iris tissues dissected from adult rats were cultured in serum free medium (DMEM/F12 + N2 supplement) with bFGF. After the iris cells were proliferated, Crx gene was transfected to the cells using adenovirus and retrovirus. As a control, GFP gene was applied. After the induction of differentiation with 1% CFS, we examined the cells by immunocytochemistry.

Results : We could obtain neuronal cells from adult rat iris tissue. Moreover, iris-derived cells could express rhodopsin and recoverin as a result of ectopic expression of Crx infected with an adenovirus or a retrovirus.

Conclusion : Iris tissue in the adult rat eye could generate cells expressing specific protein to photoreceptor cells with homeobox gene transfection.

キーワード：虹彩、成体ラット、視細胞、ホメオボックス遺伝子、Crx、アデノウイルス、レトロウイルス、分化誘導